



Metode pengujian kadar bakteri koli total dalam air dengan saringan membran



Daftar isi

Daftar isi.....	i
DAFTAR RUJUKAN	ii
Metode pengujian kadar bakteri koli total dalam air dengan saringan membran	1
BAB I.....	1
DESKRIPSI.....	1
1.1 Maksud dan Tujuan	1
1.2 Ruang Lingkup.....	1
1.3 Pengertian.....	1
BAB II	3
KETENTUAN-KETENTUAN	3
2.1 Umum	3
2.2 Peralatan	3
2.3 Bahan.....	4
2.4 Contoh Uji dan Benda Uji.....	4
BAB III.....	6
CARA UJI	6
3.1 Persiapan Uji.....	6
3.2 Persiapan Benda Uji	7
3.3 Pengujian	7
3.4 Perhitungan Jumlah Bakteri Koli Total.....	8
BAB IV	9
LAPORAN UJI	9
LAMPIRAN A DAFTAR ISTILAH	10

DAFTAR RUJUKAN

American Public Health Association (APHA),

American Water Works Association (AWWA) 1954,

1954 *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater, 9 Th Edition, Washington, DC.*

American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA)

1954 Water Pollution Control Federation (WPCF)

1985 *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater, 16 Th Edition, Port City Press, Baltimore, Maryland.*

Dewan Standardisasi Nasional

1991 *Metode Pengambilan Contoh Uji Kualitas Air, Nomor SNI 06—2412—1991 Departemen PU, Jakarta.*



Metode pengujian kadar bakteri koli total dalam air dengan saringan membran

BAB I DESKRIPSI

1.1 Maksud dan Tujuan

1.1.1 Maksud

Metode Pengujian Bakteri Koli Total dalam Air dengan Saringan Membran dimaksudkan sebagai acuan dan pegangan dalam melaksanakan pengujian bakteri koli total dalam air dengan saringan membran di laboratorium dan di lapangan.

1.1.2 Tujuan

Tujuan metode ini adalah untuk mengukur jumlah bakteri koli total dalam air guna keperluan perencanaan dan pelaksana.

1.2 Ruang Lingkup

Metode pengujian ini :

- 1) membahas, ketentuan-ketentuan dan cara uji;
- 2) dilakukan dengan alat saringan membran.

1.3 Pengertian

Yang dimaksud dengan:

- 1) **bakteri koli total** adalah bakteri kelompok koli yang terdapat pada tinja dan bukan tinja;
- 2) **medium** adalah bahan yang mengandung air, karbon, energi, mineral dan faktor tumbuh, untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikro organisme;
- 3) **contoh uji** adalah contoh air yang diproses menjadi benda uji;
- 4) **benda uji** adalah contoh air yang siap untuk diuji;
- 5) **dispenser** adalah alat untuk mengatur keluarnya kertas penyerap media;
- 6) **air permukaan tidak tercemar** adalah air permukaan yang tidak dipakai untuk membuang limbah rumah tangga;
- 7) **air limbah yang telah diolah**, adalah air limbah rumah tangga yang telah mengalami pengolahan;

- 8) **air limbah baku**, adalah air limbah rumah tangga yang belum diolah;
- 9) **saringan membran** adalah saringan yang berpori 0,45 μm yang dipergunakan untuk menyaring bakteri koli total.



BAB II

KETENTUAN-KETENTUAN

2.1 Umum

Pengujian harus memenuhi ketentuan-ketentuan sebagai berikut:

- 1) contoh uji diambil sesuai dengan SNI 06-2412-1991 tentang Metode Pengambilan Contoh Uji Kualitas Air.
- 2) semua alat ukur harus dikalibrasi;
- 3) nama, tanda tangan pelaksana, penanggung jawab pengujian dan tanggal pengujian harus ditulis dengan jelas pada formulir kerja.

2.2 Peralatan

Peralatan harus memenuhi ketentuan berikut :

- 1) neraca analitik yang mempunyai ketelitian sampai 0,1 mg;
- 2) gelas harus steril, terdiri dari :
 - (1) botol contoh uji dengan tutup kapasitas minimal 120 mL;
 - (2) pipet ukur 1 mL, 5 mL, dan 10 mL;
 - (3) labu ukur 100 mL dan 1000 mL;
 - (4) gelas ukur 100 mL;
 - (5) batang pengaduk dari gelas;
 - (6) labu Erlenmeyer;
 - (7) tabung reaksi kapasitas 20 mL.
- 3) pH meter yang mempunyai besaran pH 0 sampai dengan 14 dengan ketelitian 1 digit di belakang koma;
- 4) kapas berlemak;
- 5) inkubator mempunyai pengatur suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
- 6) otoklaf;
- 7) alat penyaring berdiameter 50 mm, kapasitas minimal 100 mL, terbuat dari logam atau bahan lain yang dapat disterilkan dan dilengkapi dengan pompa vakum;
- 8) saringan membrane berpori $0,45\ \mu\text{m}$, diameter 47 mm;
- 9) dispenser berisi kertas penyerap media diameter 47 mm;
- 10) cawan petri dengan tinggi 0,5 - 1,0 cm dan diameter 50 mm;
- 11) pembakar Bunsen atau lampu spirtus yang mempunyai nyala oksidasi.

2.3 Bahan

Bahan kimia harus berkualitas tinggi, terdiri dari .

- 1) medium MF Endo Broth;
- 2) alkohol 95%;
- 3) natrium hidroksida, (NaOH);
- 4) natrium thiosulfat, ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$);
- 5) ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}^2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$);
- 6) kalium dihi rogen phosphat, (KH_2PO_4);
- 5) magnesium sulfat, ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 6) air suling yang mempunyai daya hantar listrik kurang dari 2 $\mu\text{mhos}/\text{Cm}$.

2.4 Contoh Uji dan Benda Uji

Contoh uji dan Benda uji harus memenuhi ketentuan berikut :

- 1) jenis contoh uji dan jumlah. Benda uji sesuai Tabel 1;

TABEL 1
JENIS CONTOH UJI DAN JUMLAH BENDA UJI

JENIS CONTOH UJI	JUMLAH BENDA UJI (mL)
Air minum	50; 100
Air bersih	10; 50; 100
Air permukaan tidak tercemar	1; 5; 10; 50
Air permukaan tercemar	0,05; 0,1; 0,5; 1,0
Limbah yang telah diolah	0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0
Air limbah atau air baku	0,0001; 0,0005; 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1

- 2) dalam hal contoh uji mengandung khlor atau senyawa halogen lainnya, tambahkan 0,1 mL larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 10%;
- 3) dalam hal contoh uji mengandung Cu^{2+} , Cr^{6+} , tambahkan 0,3 mL larutan EDTA;
- 4) contoh uji yang tidak langsung dikerjakan harus diawetkan dengan pendinginan es dan analisa dapat ditunda maksimal selama 6 jam;

- 5) benda uji tidak mempunyai kekeruhan lebih dari 100 NTU;
- 6). bakteri koli total yang tumbuh dan dapat dihitung dalam benda uji hanya yang berjumlah 20 sampai dengan 60 koloni..

2.5. Rumus Perhitungan

Rumus untuk menghitung jumlah bakteri koli total adalah sebagai berikut :

$$\text{Jumlah bakteri koli total/100 mL} = \frac{\text{JK} \times 100}{V} \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

JK = jumlah koloni
 V = volume contoh uji (mL)
 100 = jumlah koloni dalam 100 mL



BAB III

CARA UJI

3.1 Persiapan Uji

Lakukan persiapan uji sebagai berikut :

- 1) buat larutan Ni.trat 1 N dengan cara melarutkan 4 gram NaOH dengan 100 mL air suling;
- 2) buat medium MF Endo Broth dengan cara :
 - (1) timbang 4.8 gr MF Endo Broth dehidrat dalam cawan;
 - (2) campurkan 2 mL alkohol 95% ke dalam air suling sampai 100 mL;
 - (3) ambil 20 mL larutan butir (2), masukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang ada tutupnya tambahkan MF *Endo* Broth yang sudah ditimbang;
 - (4) tambahkan semua sisa larutan alkohol ke dalam labu Erlenmeyer;
 - (5) tempatkan labu tersebut di atas penangas air;
 - (6) panaskan 3 sampai dengan 5 menit, amati jangan sampai mendidih;
 - (7) angkat, dinginkan sampai 45°C kemudian ukur pH antara 7,1 - 7,3 dengan penambahan NaOH 1 N;
 - (8) simpan medium pada temperatur antara 2 sampai dengan 10°C, paling lama 96 jam;
- 3) buat larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 10% dengan cara melarutkan 10.0 gram $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ dengan 100 mL air suling;
- 4) buat larutan EDTA 15% dengan cara melarutkan 15,0 gram EDTA dengan 100 mL air suling;
- 5) buat larutan pengencer buffer fosfat pH 7.2 dengan cara
 - 1) larutkan 3.4 gram KH_2PO_4 dengan 50 mL air suling, ukur pH sampai 7,2 dengan penambahan larutan NaOH 1 N, masukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan tambahkan air suling sampai batas tanda tera;
 - (2) larutkan 5.0 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ dengan air suling ke dalam labu ukur 100 mL sampai batas tanda tera;
 - (3) pipetkan 1,25 mL larutan KH_2PO_4 , 5 mL larutan MgSO_4 ke dalam labu ukur 1000 mL, tambahkan air suling hingga batas tanda tera;
 - (4) pindahkan ke dalam labu Erlenmeyer 1000 mL, tutup dengan kapas steril dan sterilkan dalam otoklaf selama 15 menit.

3.2 Persiapan Benda Uji

Buat pengenceran untuk benda uji lebih dari 1 mL dengan cara :

- 1) pipetkan 9 mL larutan pengencer ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 mL benda uji, dalam hal ini 1 mL larutan mengandung 0,1 mL Benda uji;
- 2) pipetkan 9 mL larutan pengencer ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 mL, benda uji pada butir 1, dalam hal ini 1 mL larutan mengandung 0,01 mL benda uji;
- 3) pipetkan 9 mL larutan pengencer ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 mL benda uji pada butir 2, dalam hal ini 1 mL larutan mengandung 0,001 mL benda uji;
- 4) pipetkan 9 mL larutan pengencer ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 mL benda uji pada butir 3, dalam hal ini 1 mL larutan mengandung 0,0001 mL benda uji.

3.3 Pengujian

Lakukan pengujian dan perhitungan jumlah bakteri sebagai berikut:

- 1) buka cawan petri, tempatkan kertas penyerap media ke dalam cawan petri dengan menggunakan dispenser;
- 2) pipetkan 2 mL medium MF Endo Broth, dan tuangkan ke dalam kertas penyerap media, tutup cawan petri;
- 3) pasang alat penyaring, yang dilengkapi dengan pompa vakum;
- 4) masukkan saringan membran ke dalam alat penyaring yang telah steril;
- 5) kocok benda uji :
 - (1) tuangkan langsung ke dalam saringan untuk benda uji lebih besar dari 10 mL;
 - (2) tuangkan 20 mL buffer steril ke dalam saringan untuk Benda uji lebih kecil dari 10 mL; lalu pipetkan benda uji ke dalam buffer;
 - (3) lihat Tabel 2 untuk benda uji lebih kecil dari 1 mL.

TABEL 2
JUMLAH BENDA UJI

Konsentrasi Benda Uji	Banyaknya Benda Uji
0,1 mL	pipet 1 mL pada butir 3.2.1
0,5 mL	pipet 5 mL pada butir 3.2.1
0,01 mL	pipet 1 mL pada butir 3.2.2
0,05 mL	pipet 5 mL pada butir 3.2.2
0,001 mL	pipet 1 mL pada butir 3.2.3
0,005 mL	pipet 5 mL pada butir 3.2.3
0,0001 mL	pipet 1 mL pada butir 3.2.4
0,0005 mL	pipet 5 mL pada butir 3.2.4

- 6) saring dengan menggunakan pompa vakum;
- 7) bilas dinding corong dan saringan dengan lebih kurang 30 mL buffer steril, ulangi pembilasan ini sebanyak 3 kali;
- 8) matikan pompa vakum, buka corong, pindahkan saringan membran hati-hati ke dalam cawan petri dengan menggunakan pinset steril;
- 9) tutup rapat cawan petri dan inkubasikan pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam;
- 10) periksa dan catat jumlah koloni berwarna emas yang tumbuh pada medium MF Endo Broth.

3.4 Perhitungan Jumlah Bakteri Koli Total

Hitung jumlah Bakteri koli total sesuai rumus (1) .



BAB IV LAPORAN UJI

Hasil uji dilaporkan dalam bentuk formulir seperti Lampiran B yang memuat :

- 1) parameter yang diuji;
- 2) nama pelaksana;
- 3) tanggal pengujian;
- 4) nomor laboratorium;
- 5) data hasil uji :
 - (1) nomor contoh uji;
 - (2) lokasi pengambilan contoh Uji.;
 - (3) waktu pengambilan contoh Uji;
 - (4) jumlah koloni yang tumbuh dalam benda uji;
 - (5) jumlah bakteri koli total dalam contoh uji;
- 6) Nama penanggung jawab pengujian;



LAMPIRAN A DAFTAR ISTILAH

air suling	: <i>aquadest</i>
saringan membrane	: <i>membran filter (MF)</i>
pompa vakum	: <i>vacuum pump</i>
otoklaf	: <i>autoclave</i>
kertas penyerap media	: <i>absorbent Pad</i>
bahan kimia berkualitas	: <i>pro analysis (p.a)</i> tinggi
dispenser	: <i>dispenser</i>
NTU	: <i>Nephelometric Turbidity Unit</i>
FDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
N	: <i>Normalitas</i>

LAMPIRAN B

1) Contoh Hasil Uji Jumlah Bakteri Koli Total

1. Parameter yang diuji : Bakteri koli total
 2. Nama pelaksana pengujian : Mamah S
 3. Tanggal pengujian : 24 Juni 1993
 4. Nomor laboratorium : 01/LAB/06/93
 5. Data hasil uji :

HASIL UJI JUMLAH BAKTERI KOLI TOTAL

No. Contoh uji	Lokasi Pengambilan contoh uji	Lokasi Rinci	Waktu pengambilan contoh uji				ml contoh uji (V)	Jumlah koloni yang tumbuh (JK)	Jumlah bakteri koli total/ 100 mL
			jam	tgl	bln	thn			
(1)	(2)	(3)	(4)				(5)	(6)	(7)
1	K.Cibeusi	Cileunyi	11.20	24	06	93	0,2	20	10.000

Bandung, 27 Juni 1993

Pelaksana Pengujian,

Penanggung Jawab,



(Mamah Salamah)



(Ir. Nasroen Rivai)

2) Contoh Perhitungan

Volume contoh uji = 0,2 mL
 Jumlah koloni yang tumbuh = 20 koloni
 Jumlah bakteri koli/100 mL =

$$\frac{100}{0,2} \times 20 \text{ koloni} = 10.000 \text{ koloni}$$











BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3-4
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.or.id